

Sinteza i karakterizacija kopolimernih hidrogelova hitozana, itakonske kiseline i *N*-izopropilakrilamida

Nedeljko B. Milosavljević, Nikola Z. Milašinović, Jovanka M. Filipović, Melina T. Kalagasidis Krušić

Univerzitet u Beogradu, Tehnološko–metalurški fakultet, Beograd, Srbija

Izvod

U ovom radu je prikazana sinteza kopolimernih hidrogelova *N*-izopropilakrilamida, itakonske kiseline i hitozana. Pri sintezi su varirani temperatura i pH vrednost rastvora za sintezu. Utvrđeno je da temperatura sinteze iznad donje kritične temperature rastvora (LCST) za NIPAM utiče na stvaranje agregata i elastičnih polimernih lanaca u mreži što omogućava veće bubrenje hidrogelova. Takođe je utvrđeno da i pH rastvora pri sintezi utiče na stepen bubrenja i kontrakcije hidrogelova, jer dolazi do različitog stepena jonizacije grupa koje ulaze u sastav hidrogela. Transport tečnosti kroz hidrogel ne prati Fick-ov zakon. Ovi hidrogelovi spadaju u grupu makroporoznih hidrogelova. Na ovaj način moguće je sintetisati hidrogelove željene funkcionalnosti što im omogućava primenu u raznim oblastima.

Ključne reči: *N*-izopropilakrilamid; itakonska kiselina; hitozan; hidrogel; bubrenje.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Inteligentni hidrogelovi koji imaju sposobnost da reaguju na male promene spoljnih stimulansa, kao što su temperatura [1], pH [2], svetlost [3], jonska jačina [4], magnetno polje [5] ili električno polje [6], privukli su značajnu pažnju istraživača. Među njima, najznačajniji su temperaturno- i pH-osetljivi hidrogelovi, jer su temperatura i pH vrednost faktori koji se najčešće menjaju u fiziološkim, biološkim i hemijskim sistemima. Međutim, za biološke primene potrebno je da materijal bude biokompatibilan i biodegradabilan [7].

Hitozan je veoma interesantan polimer za biomedicinske primene zbog svoje biokompatibilnosti, biodegradabilnosti i niske toksičnosti [8,9]. On je linearni polisaharid dobijen deacetilovanjem hitina. Uglavnom se sastoji od dve vrste strukturnih jedinica: 2-amino-2-deoksi-D-glukoze i *N*-acetil-2-amino-2-deoksi-D-glukoze povezane $\beta(1\rightarrow4)$ vezama. U kiseloj sredini, amino grupe hitozana postaju protonovane, što omogućava rastvorljivost hitozana.

S druge strane, *P(N-iPAAm)* hidrogel je jedan od najviše proučavanih temperaturno-osetljivih hidrogelova. On pokazuje negativnu temperaturnu osetljivost, odnosno donju kritičnu temperaturu rastvora (LCST) oko 33 °C, ispod koje bubri, a iznad koje se kontrahuje [10]. Usled promene temperature okoline dolazi do promene odnosa hidrofилnih/hidrofobnih interakcija u hidrogelu što utiče na fazni prelaz [11]. U slučaju *P(N-iPAAm)* hidrogelova, neophodno je ugraditi jonski komonomer kako bi se dobila pH osetljivost. Kombinovanjem pH- i temperaturne osetljivosti poboljšavaju se

NAUČNI RAD

UDK 678.7:66.095.26

Hem. Ind. 65 (6) 657–666 (2011)

doi: 10.2298/HEMIND110913072M

svojstva *P(N-iPAAm)* hidrogelova, jer je na ovaj način moguće zaštititi aktivnu supstancu od degradacije [12].

Cilj ovog rada bio je da se sintetišu kopolimerni hidrogelovi *N*-izopropilakrilamid/itakonska kiselina/hitozan. Pri sintezi su varirani pH vrednost rastvora za sintezu i temperatura kako bi se utvrdio uticaj ovih parametara pri sintezi na svojstva hidrogelova. Ispitana je kinetika i mehanizam bubrenja kao i kontrakcije hidrogelova u vodi. Iz dobijenih rezultata određeni su parametri mreže, molska masa između dve tačke umreženja i veličina pora.

EKSPERIMENTALNI DEO

U ovom radu su korišćeni sledeći reaktanti: itakonska kiselina, Ik (Fluka), *N*-izopropilakrilamid, *N*-iPAAm (Acros), hitozan, Ch, (Fluka), umreživač *N,N'*-metilenbissakrilamid, MBA (Serva), inicijator kalijum-persulfat, KPS (Merck), ubrzivač kalijum-pirosulfat, KPyS (Merck). *N*-Izopropilakrilamid je pre upotrebe prečišćen u smeši benzen/*n*-heksan (35/75). Ostali reaktanti su korišćeni bez prečišćavanja.

Sinteza hidrogelova

Sinteza uzoraka je izvedena radikalnom kopolimerizacijom, pri čemu su varirani temperatura sinteze (25 i 37 °C) i pH vrednost rastvora za sintezu: 4,6; 5,1 i 6,0. Sadržaj hitozana (0,7 mas%), maseni odnos komonomera *N*-iPAAm i Ik (90,6/9,4) i koncentracija redoks para inicijator/ubrzivač (1 mas%) u svim sintetisanim uzorcima bio je isti. Takođe, pri sintezi je varirana i koncentracija umreživača: sintetisani su gelovi sa 2 i 3 mas% umreživača, računato na smešu polaznih komponenta. Uzorci su obeleženi na sledeći način:

a) Uzorci sintetisani na 25 °C sa 2% MBA:25ChNik-1, 25ChNik-2, 25ChNik-3.

Prepiska: N.B. Milosavljević, Tehnološko–metalurški fakultet, Karijeveva 4, 11000 Beograd, Srbija.

E-pošta: nesslee@tmf.bg.ac.rs

Rad primljen: 13. septembar, 2011

Rad prihvaćen: 22. septembar, 2011

b) Uzorci sintetisani na 25 °C sa 3% MBA:25ChNIK-4, 25ChNIK-5, 25ChNIK-6.

c) Uzorci sintetisani na 37 °C sa 2% MBA:37ChNIK-1, 37ChNIK-2, 37ChNIK-3.

d) Uzorci sintetisani na 37 °C sa 3% MBA:37ChNIK-4, 37ChNIK-5, 37ChNIK-6.

Napravljen je rastvor hitozana (1 mas%) u 1,75 M CH₃COOH, a zatim je tom rastvoru dodato 10 mL rastvora lk (6 mas%). Ovo je bio osnovni rastvor čija je pH vrednost 2,70. Dalje se tom rastvoru pažljivo dodaje 3M NaOH da bi se pH vrednost podesila na: 3,8; 4,3 i 5,2.

Rastvori su prođuvavani azotom oko 20 min da bi se uklonio kiseonik i pomešani, a zatim je reakciona smeša izlivena u kalup, koji se sastoji od dve staklene ploče razdvojene PVC crevom. Pri mešanju rastvora dolazi do porasta pH vrednosti rastvora za 0,8, tako da pH vrednost rastvora neposredno pre sinteze iznosi 4,60; 5,10 i 6,00. Kalup sa reakcionom smešom je stavljen u sušnicu na 25, odnosno 37 °C. Sinteza traje dok kompletna reakciona smeša ne očvrсне (24 h). Po završenoj sintezi gel je isečen u diskove prečnika 10 mm. Ovako isečeni gelovi su potopljeni u destilovanu vodu da bi se ekstrahovale neproreagovale materije. Voda je menjana svakodnevno tokom sedam dana. Prikupljena voda je uparena do suva, a ostatak izmeren na vagi kako bi se odredila količina neproreagovanih materija. Nakon toga gelovi su ostavljeni da se suše na vazduhu do konstantne mase. Sinteze ostalih uzoraka su izvedene pod istim uslovima, uz promenu pH vrednosti rastvora.

Stepen bubrenja je određivan tako što su sintetisani suvi uzorci u obliku diska potopljeni u 50 mL puferskog rastvora uz održavanje konstantne temperature. Procesi bubrenja/kontrakcije su praćeni gravimetrijski na 25/37 °C, merenjem mase nabubrelog gela u jednakim vremenskim intervalima, od trenutka kada je stavljen u određeni pH rastvor na konstantnoj temperaturi do uspostavljanja ravnoteže, odnosno ravnotežnog stepena bubrenja/kontrakcije, q_e/q_e' .

Stepen bubrenja hidrogelova je računat prema jednaćini [13]:

$$q_t = (w_t/w_0) \quad (1)$$

dok je stepen kontrakcije računat prema jednaćini:

$$q'_t = (w'_t/w_0) \quad (2)$$

gde je w_0 masa suvog uzorka, w_t masa nabubrelog, a w'_t masa kontrahovanog hidrogela u trenutku t .

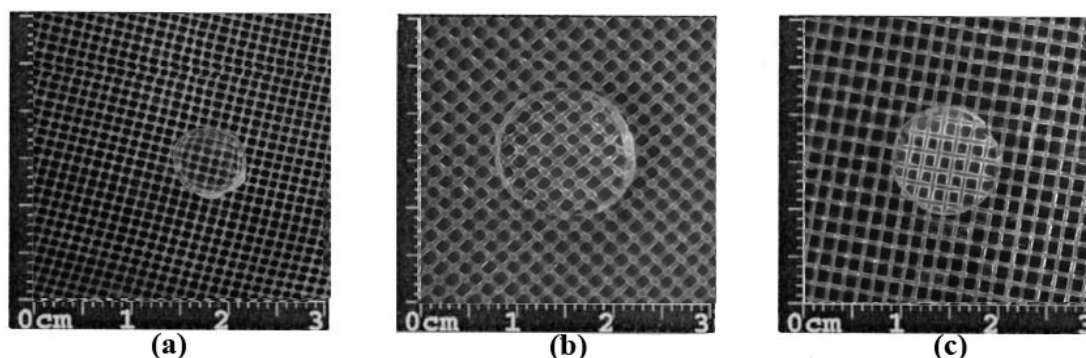
REZULTATI I DISKUSIJA

Određivanje ravnotežnog stepena bubrenja i stepena kontrakcije

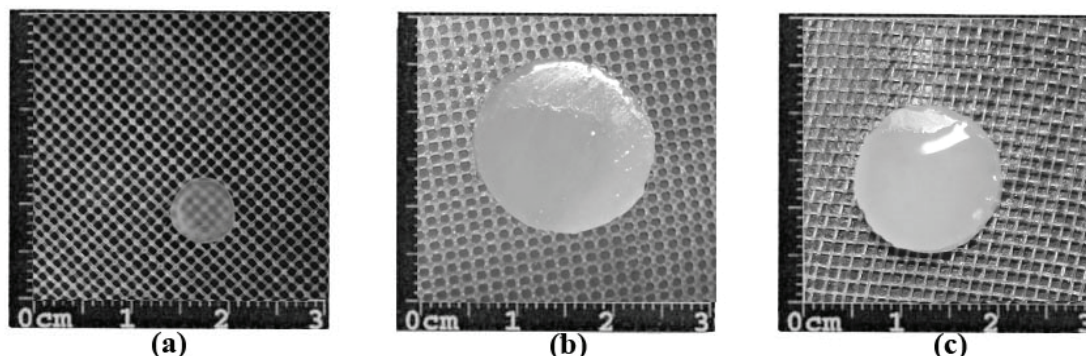
Jedno od najvažnijih svojstava hidrogelova je bubrenje pri kontaktu sa vodom ili fiziološkom tećnošću. Pri tome se zapremina hidrogela menja jer dolazi do apsorpcije vode, odnosno fiziološke tećnosti.

P(N-iPAAM) ima donju kritičnu temperaturu rastvora (LCST) oko 33 °C, ispod koje bubri, a iznad koje je kontrahovan. Na temperaturi od 25 °C, koja je ispod LCST N-iPAAM, dominiraju interakcije polimernih lanaca sa molekulima vode, odnosno dolazi do hidratacije polimernog lanca molekulima vode. Uspostavljaju se vodonične veze i hidrogel bubri do uspostavljanja ravnoteže. Na slikama 1 i 2 prikazan je izgled hidrogelova 25ChNIK-1 i 37ChNIK-1 u suvom, nabubrelom i u kontrahovanom stanju. Fazna transformacija, usled pojave LCST, uočava se u izgledu hidrogelova. Pri sintezi ispod LCST (na 25 °C) hidrogelovi su transparentni, dok pri sintezi na temperaturi od 37 °C, tj. iznad vrednosti LCST postaju opalescentni.

Itakonska kiselina sadri dve karboksilne grupe, razlićitih pK_a vrednosti, $pK_{a1} = 3,85$ i $pK_{a2} = 5,44$. Kada pH vrednost sredine poraste iznad pK_a karboksilnih grupa, dolazi do njihove jonizacije i na njima se stvara stalno naelektrisanje. Sa porastom pH vrednosti sredine raste i stepen jonizacije karboksilnih grupa, a tako i gustina naelektrisanja. Hidrofilnost mreže raste, a istoimeno naelektrisanje uslovljava pojavu odbojnih elektrostatikih sila između polimernih lanaca, pa dolazi do povećanja zapremine gela i veće apsorpcije molekula vode. Hitozan sa druge strane ima jednu amino grupu čija je



Slika 1. Fotografije uzorka 25ChNIK-1 sintetisanog na 25 °C: a) u suvom stanju, b) u nabubrelom stanju i c) u kontrahovanom stanju.
Figure 1. Photographs of the 25ChNIK-1 sample synthesized at 25 °C: a) dry state, b) swelled state and c) deswelled state.

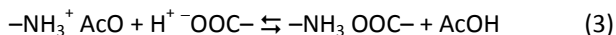


Slika 2. Fotografije uzorka 37ChNik-1 sintetisanog na 37 °C: a) u suvom stanju, b) u nabubreloom stanju i c) u kontrahovanom stanju.
Figure 2. Photographs of the 37ChNik-1 sample synthesized at 37 °C: a) dry state, b) swelled state and c) deswelled state.

$pK_b \approx 6,5$, što znači da se za pH vrednosti manje od pK_a amino grupa.

Dobijene krive bubrenja i kontrakcije prikazane su na slici 3.

Pri sintezi gela na pH 6,0 obe COOH grupe itakonske kiseline su jonizovane, jer je pH vrednost medijuma veća i od pK_{a1} i od pK_{a2} karboksilne grupe I_k, ali je jako mali broj amino grupa hitozana jonizovan. Isto važi i za sintezu pri pH 5,10. Pri pH 4,6 optimalan broj karboksilnih i amino grupa je jonizovan što omogućuje obrazovanje jonske veze između hitozana i itakonske kiseline (tabela 1). Na mestima gde dolazi do obrazovanja jonske veze između NH_3^+ i COO^- prema jednačini (3), ne može se odigrati umrežavanje sa MBA.



Kada uzorci sintetizovani pri pH 4,6 bubre pri pH 6,8, dolazi do raskidanja jonske veze jer hitozan pri tom pH nije u jonizovanom obliku, odnosno NH_3^+ prelaze u NH_2 oblik. Mesta gde se raskida jonska veza prelaze u "pore" gela, pa zbog toga uzorci sintetisani na pH 4,6 dostižu najveći ravnotežni stepen bubrenja.

Stepen obrazovanja jonskih veza je manji za uzorke sintetizovane na pH vrednostima ispod i iznad pH 4,6, tako da je bubrenje tih uzoraka na pH 6,8 manje od bubrenja uzoraka koji su sintetizovani na pH 4,6.

Sa porastom temperature rastvora iznad LCST, dolazi do raskidanja uspostavljenih vodoničnih veza između vode i *N*-iPAAm, polimerni lanci se sve više skupljaju, voda se istiskuje iz gela, tako da se gel kontrahuje [14].

Do istih promena dolazi prilikom bubrenja uzoraka sa 3% umreživača, s tim da je ravnotežni stepen bubrenja niži zbog većeg stepena umreženja.

Iz prikazane slike 3 i tabela 2 i 3 uočeno je da stepen bubrenja i stepen kontrakcije, kao i ravnotežni stepen bubrenja i kontrakcije, opadaju sa porastom pH vrednosti rastvora pri sintezi.

Uzorci ChNik sa 2% i 3% MBA, sintetisani pri pH 4,60 imaju najveće vrednosti ravnotežnog stepena bubrenja

i stepena kontrakcije, a najniže vrednosti su uočene kod svih uzoraka sintetisanih pri pH 6,0.

Poređenjem rezultata bubrenja uzoraka sintetisanih na 25 i 37 °C može se zaključiti da uzorci sintetisani na 37 °C imaju veći ravnotežni stepen bubrenja. Kada se sinteza izvodi na 25 °C ili nižim temperaturama formira se homogena polimerna mreža (slika 4). Međutim, na povišenim temperaturama (iznad LCST) polimerna mreža postaje nehomogena zbog faznog razdvajanja do koga dolazi u vodenom rastvoru poli(N-iPAAm), što uzrokuje formiranje domena bogatih polimerom, odnosno agregata u polimernoj matrici. Ovi agregati su povezani makromolekulskim lancima (slika 4) i formira se elastična polimerna mreža. Ovo je razlog zbog koga je uočeno veće bubrenje uzoraka sintetisanih na temperaturi od 37 °C.

Stepen bubrenja i ravnotežni stepen bubrenja opadaju sa porastom stepena umreženja, što je i očekivano, jer veći sadržaj umreživača povećava gustinu mreže i pri tome smanjuje pokretljivost polimernih lanaca i elastičnost mreže.

Ravnotežni sadržaj vode

Apsorbovana voda u hidrogelu kvantitativno se može prikazati preko ravnotežnog sadržaja vode (RSV) [15,16]:

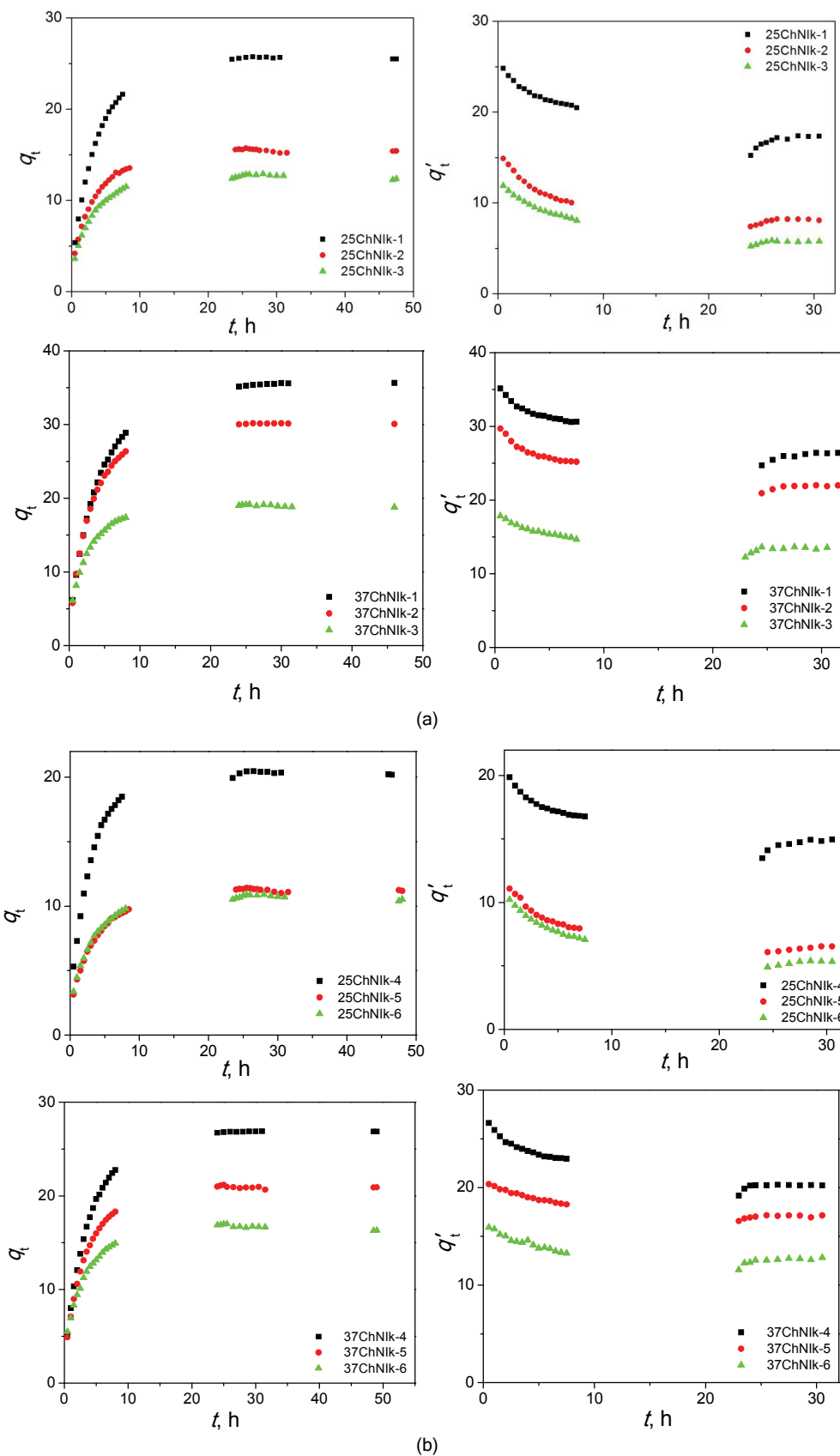
$$RSV = \frac{w_s - w_o}{w_s} \quad (4)$$

gde je w_s masa nabubrelog gela u ravnoteži, a w_o masa suvog uzorka. Izračunate vrednosti RSV hidrogelova su prikazane u tabeli 4.

Sve vrednosti RSV-a za ispitivane uzorke su veće od procenta sadržaja vode u ljudskom telu ($\geq 60\%$). Ovakav podatak pokazuje da hidrogelovi sadrže slične količine fluida kao i pojedina tkiva u ljudskom organizmu [17].

Difuzija

Poznato je da je difuzija u hidrogelovima povezana sa fizičkim svojstvima mreže i interakcijama između polimera i penetrirajućeg medijuma [18,19]. Kada suv



Slika 3. Bubrenje i kontrakcija uzoraka sintetisanih (a) sa 2% MBA i (b) sa 3% MBA.
 Figure 3. Swelling and deswelling of the synthesized samples with (a) 2% MBA and (b) 3% MBA.

Tabela 1. Opis procesa bubrenja za uzorak sa 2% umreživača na pH 6,8 i 25 °C

Table 1. Description of the swelling process of the sample with 2% of crosslinker at pH 6.8 and 25 °C

pH rastvora za sintezu	Odnos COOH i COO ⁻ grupa	Odnos NH ₂ i NH ₃ ⁺ grupa	Jonske veze između lk i Ch pri sintezi	Umreženje
4,6	COOH/COO ⁻	Optimalan broj NH ₃ ⁺ grupa	Veliki broj uspostavljenih jonskih veza	Najmanji stepen umreženja
5,1	COO ⁻ > COOH	Mali broj NH ₃ ⁺ grupa	Mali broj uspostavljenih jonskih veza	Veliki stepen umreženja
6,0	Najveći broj COO ⁻	Mali broj NH ₃ ⁺ grupa (pH < 5,10)	Mali broj uspostavljenih jonskih veza (pH < 5,10)	Veliki stepen umreženja (pH < 5,10)

Tabela 2. Ravnotežni stepen bubrenja/kontrakcije za uzorke sintetisane na 25 °C

Table 2. Equilibrium degree of swelling / deswelling of the sample synthesized at 25 °C

Uzorak	q_e	q'_e
25ChNik-1	25,61	16,63
25ChNik-2	15,38	7,55
25ChNik-3	12,39	5,77
25ChNik-4	20,32	20,32
25ChNik-5	11,25	11,25
25ChNik-6	10,62	10,62

Tabela 3. Ravnotežni stepen bubrenja/kontrakcije za uzorke sintetisane na 37 °C

Table 3. Equilibrium degree of swelling / deswelling of the sample synthesized at 37 °C

Uzorak	q_e	q'_e
37ChNik-1	35,58	24,32
37ChNik-2	30,14	20,66
37ChNik-3	18,83	13,50
37ChNik-4	26,89	18,85
37ChNik-5	20,86	17,09
37ChNik-6	16,53	12,70

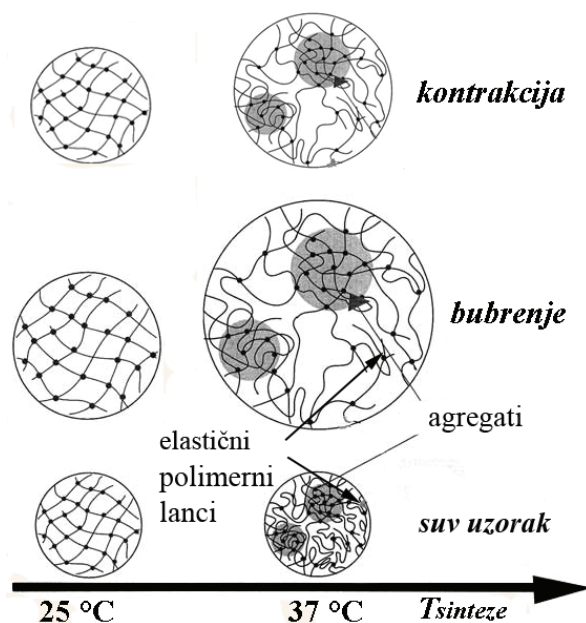
Slika 4. Šematski prikaz sintetisanih hidrogelova na 25 i 37 °C u suvom, nabubrelom i kontrahovanom stanju.
Figure 4. Schematic view of hydrogels synthesized at 25 and 37 °C in a dry, swelled and deswelled state.

Tabela 4. Ravnotežni sadržaj vode (RSV) u hidrogelu
Table 4. The equilibrium water content (RSV) in the hydrogel

Uzorak	RSV	Uzorak	RSV
25ChNIK-1	0,96	37ChNIK-1	0,97
25ChNIK-2	0,93	37ChNIK-2	0,97
25ChNIK-3	0,92	37ChNIK-3	0,95
25ChNIK-4	0,95	37ChNIK-4	0,96
25ChNIK-5	0,91	37ChNIK-5	0,95
25ChNIK-6	0,90	37ChNIK-6	0,94

uzorak dođe u kontakt sa vodom, počinje proces bubrenja. Molekuli vode difunduju u polimernu mrežu i smeštaju se u male prostore između polimernih lanaca dovodeći do njihovog razdvajanja [13].

Mehanizam procesa difuzije rastvarača u gel određuje se preko sledeće jednačine [13]:

$$\frac{w_t}{w_e} = kt^n \quad (5)$$

gde su w_t – masa apsorbovane vode u trenutku t , w_e – masa apsorbovane vode u stanju ravnoteže, k – konstanta karakteristična za određenu vrstu gela, t – vreme i n – difuzioni eksponent.

Poznavanjem difuzionog eksponenta dobija se informacija o mehanizmu apsorpcije vode. Ukoliko je vrednost difuzionog eksponenta $n \leq 0,5$, transport tečnosti u hidrogel prati Fick-ov zakon, odnosno difuzija vode kontroliše bubrenje, jer je to sporiji proces od relaksacije polimernih lanaca. Kada je $n = 1$ relaksacija polimernih lanaca kontroliše proces bubrenja (tzv. tip II, engl. *case II*). Za vrednosti n u intervalu $0,5 < n < 1$ mehanizam bubrenja ne prati Fick-ov zakon, a difuzija tečnosti i relaksacija polimernih lanaca kontrolišu proces bubrenja. Za vrednosti $n > 1$ mehanizam odgovara tipu III (engl. *super case II*).

Grafik pravolinijske zavisnosti između $\ln(w_t/w_e)$ i $\ln t$ je prikazan na slici 5.

Iz odsečka i nagiba prave izračunate su vrednosti konstante k i vrednosti eksponenta n za početnu fazu procesa bubrenja hidrogelova, kada je zavisnost stepena bubrenja od proteklog vremena pravolinijska. To je vreme za koje gel apsorbuje 60% od ukupno apsorbovane vode, odnosno rastvora. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 5.

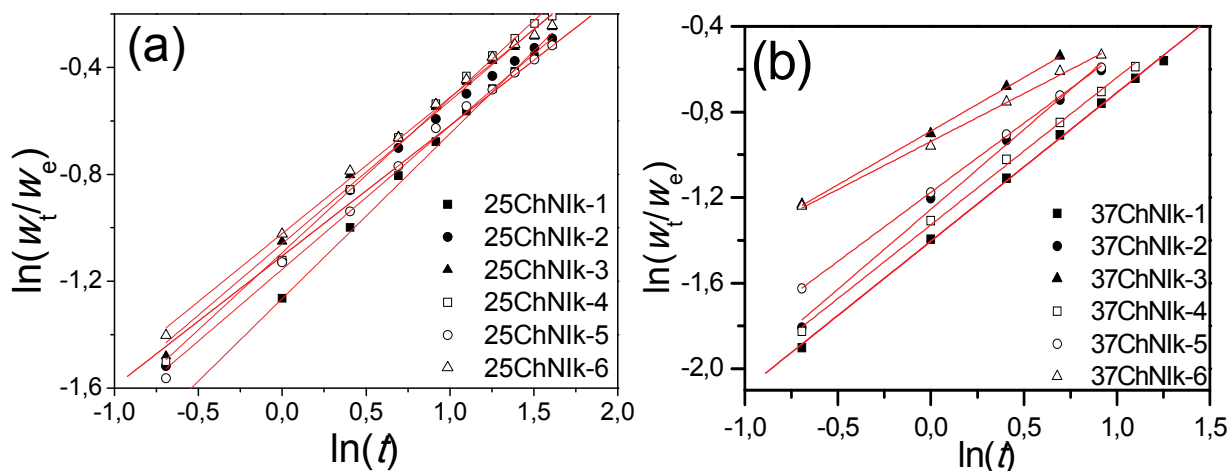
Iz prikazanih rezultata je uočeno da je difuzioni eksponent za sve uzorke veći od 0,5. To ukazuje da transport tečnosti kroz hidrogel ne prati Fick-ov zakon, tj. difuzija vode i relaksacija polimernih lanaca kontrolišu proces bubrenja.

Kinetika bubrenja

Da bi se odredio red reakcije po kome se odigrava bubrenje hidrogelova, potrebno je poznavati normalizovani stepen bubrenja i normalizovani ravnotežni stepen bubrenja, kao i jednačine koje opisuju prvi i drugi red reakcije.

Normalizovani stepen bubrenja, Q_t , računa se pomoću jednačine:

$$Q_t = \frac{w_t - w_0}{w_0} \quad (6)$$



Slika 5. Zavisnost $\ln(w_t/w_e)$ vs $\ln t$ za hidrogelove sintetisane: a) na 25 i b) na 37 °C.
Figure 5. Dependence of $\ln(w_t/w_e)$ vs $\ln t$ for hydrogels synthesized at: a) 25 and b) 37 °C.

Tabela 5. Kinetički parametri bubrenja
Table 5. Kinetic parameters of swelling

Uzorak	$k \times 10^3 / \text{min}^{-1/2}$	n	Uzorak	$k \times 10^3 / \text{min}^{-1/2}$	n
25ChNik-1	4,70	0,62	37ChNik-1	4,10	0,69
25ChNik-2	5,49	0,54	37ChNik-2	4,75	0,75
25ChNik-3	5,78	0,53	37ChNik-3	6,85	0,52
25ChNik-4	5,59	0,58	37ChNik-4	4,42	0,69
25ChNik-5	5,25	0,54	37ChNik-5	5,15	0,65
25ChNik-6	6,00	0,51	37ChNik-6	6,52	0,55

Vrednost normalizovanog ravnotežnog stepena bubrenja, Q_e , dobija se iz vrednosti normalizovanog stepena bubrenja u ravnotežnom stanju.

Ako se pretpostavi da proces bubrenja, odnosno dostizanje ravnotežnog stanja, prati reakciju prvog reda onda se primenjuje sledeća jednačina:

$$\frac{Q_t}{Q_e} = 1 - \exp(-k_1 t) \quad (7)$$

gde je k_1 konstanta brzine reakcije prvog reda, h^{-1} , t je vreme, h , Q_t normalizovani stepen bubrenja i Q_e normalizovani ravnotežni stepen bubrenja.

Logaritmovanjem jednačine (7) i njenim sređivanjem dobija se sledeća zavisnost:

$$\ln\left(1 - \frac{Q_t}{Q_e}\right) = -k_1 t \quad (8)$$

Ukoliko se pretpostavi da se kinetika procesa bubrenja odvija prema reakciji drugog reda, koristi se sledeća jednačina [20]:

$$Q_t = \frac{k_2 Q_e^2 t}{1 + k_2 Q_e^2 t} \quad (9)$$

gde je k_2 konstanta brzine reakcije drugog reda, h^{-1} .

Linearizovanjem se jednačina (9) svodi na sledeći oblik [20]:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad (10)$$

Na osnovu dobijenih rezultata (tabele 6 i 7) može se zaključiti da proces bubrenja hidrogelova na bazi Ch, N-iPAAm i lk značajno odstupa od prvog reda reakcije. S druge strane, zavisnost $t/Q_t - t$ je za sve uzorke pravolinijska, a postoji i slaganje eksperimentalno određene i izračunate vrednosti normalizovanog ravnotežnog stepena bubrenja gela, $Q_{e,eks}$ i $Q_{e,izr}$, što potvrđuje da proces bubrenja prati reakciju drugog reda.

Parametri mreže

Osnovni parametri mreže hidrogela kao što su: molska masa polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja, M_c , udeo zapremine polimera u nabubrelom gelu, v_{2m} , efektivna gustina umreženja, v_e , i veličina pora, ξ , izračunati su na osnovu teorije ravnotežnog bubrenja.

Za izračunavanje molske mase polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja koristi se sledeća jednačina [21]:

$$\bar{M}_c = \frac{(1-2/\phi)V_1 v_{2r}^{2/3} v_{2m}^{1/3}}{\bar{v}[\ln(1-v_{2m}) + v_{2m} + \chi v_{2m}^2]} \quad (11)$$

gde su v_{2r} udeo zapremine polimera u stanju relaksacije (koje je definisano kao stanje polimera odmah nakon sinteze, ali pre bubrenja), v_{2m} udeo zapremine polimera u nabubrelom stanju, \bar{v} specifična zapremina polimera, V_1 molarna zapremina vode, odnosno medijuma za bubrenje.

Molarna zapremina vode, V_1 , računa se na osnovu sledeće formule [22]:

Tabela 6. Vrednosti eksperimentalno dobijenog i izračunatog normalizovanog ravnotežnog stepena bubrenja gela, parametara prvog i drugog reda reakcije za uzorke sintetisane na temperaturi 25 °C

Table 6. The experimental and calculated values of normalized equilibrium degree of swelling, parameters of first and second order for the samples synthesized at temperature of 25 °C

Uzorak	$Q_{e,eks}$	I red reakcije			II red reakcije		
		k_1 / h^{-1}	R^2	$Q_{e,izr}$	k_2 / h^{-1}	R^2	$Q_{e,izr}$
25ChNik-1	25,6	0,1312	0,8079	35,7	0,0379	0,9989	22,7
25ChNik-2	15,4	0,1065	0,9567	23,9	0,0653	0,9988	13,4
25ChNik-3	12,4	0,0664	0,9026	24,6	0,0856	0,9983	11,3
25ChNik-4	20,3	0,1127	0,7803	37,6	0,0494	0,9991	18,7
25ChNik-5	11,2	0,1080	0,9569	16,3	0,0916	0,9986	9,7
25ChNik-6	10,6	0,0666	0,8449	20,7	0,1027	0,9984	9,5

Tabela 7. Vrednosti eksperimentalno dobijenog i izračunatog normalizovanog ravnotežnog stepena bubrenja gela, parametara prvog i drugog reda reakcije za uzorke sintetisane na temperaturi 37 °C
 Table 7. The experimental and calculated values of normalized equilibrium degree of swelling, parameters of first and second order for the samples synthesized at temperature of 37 °C

Uzorak	$Q_{e, eks}$	I red reakcije			II red reakcije		
		k_1 / h^{-1}	R^2	$Q_{e, izr}$	k_2 / h^{-1}	R^2	$Q_{e, izr}$
37ChNik-1	35,6	0,1986	0,9914	32,9	0,0084	0,9993	38,0
37ChNik-2	30,1	0,2035	0,8381	17,8	0,0147	0,9993	31,2
37ChNik-3	18,8	0,0641	0,7365	9,71	0,0506	0,9982	18,3
37ChNik-4	26,9	0,2007	0,9535	17,7	0,0135	0,9992	28,1
37ChNik-5	20,8	0,0824	0,9107	10,1	0,0253	0,9983	20,9
37ChNik-6	16,5	0,0685	0,8473	8,91	0,0431	0,9981	16,2

$$V_1 = 10^{-3}\{18,05 + [3,6 \times 10^{-3} \cdot (T - 298)]\} \quad (12)$$

gde je T temperatura na kojoj su izvedena merenja.

Zavisnost po kojoj se računa parametar interakcije polimer–rastvarač, χ , data je sledećom jednačinom [23]:

$$\chi = \frac{\ln(1 - v_{2m}) + v_{2m}}{v_{2m}^2} \quad (13)$$

Linearno rastojanje između susednih tačaka umreženja, ξ , može se izračunati iz sledećeg izraza [23]:

$$\xi = \alpha (\bar{r}_0^2)^{1/2} \quad (14)$$

gde je α udeo izduživanja polimernog lanca u bilo kom pravcu, dok je $(\bar{r}_0^2)^{1/2}$ koren srednjeg kvadrata neporemećenog rastojanje između najbližih umreženja. Izrazi za α i $(\bar{r}_0^2)^{1/2}$ dati su sledećim jednačinama [23]:

$$\alpha = v_{2m}^{-1/3} \quad (15)$$

$$(\bar{r}_0^2)^{1/2} = l \left(\frac{2C_n \bar{M}_c}{M_r} \right)^{1/2} \quad (16)$$

gde je C_n Flory-ev karakteristični odnos [24], l dužina C–C veze u osnovnom lancu, a M_r molska masa osnovne strukturne jedinice koja čini polimerni lanac.

Rezultati izračunatih strukturnih parametara prikazani su u tabeli 8.

Manje vrednosti parametra interakcije ukazuju na bolju rastvorljivost i veću mogućnost bubrenja, odnosno na povećanu kompatibilnost polimera i vode i stabilnu strukturu polimernih lanaca u solvatsanom stanju [25].

Molska masa polimernih lanaca između dve susedne tačke umreženja raste sa smanjenjem koncentracije umreživača. Najveću vrednost M_c imaju uzorci sintetisani pri pH 4,6, a najmanje uzorci sintetisani pri pH 6,0. Poredeći rezultate za vrednosti M_c uzoraka sintetisanih na 25 i 37 °C uočava se da su te vrednosti veće za uzorke sintetisane na 37 °C što je u skladu sa rezultatima bubrenja.

Na osnovu dobijenih vrednosti veličina pora može se zaključiti da ispitivani uzorci pripadaju grupi makroporoznih hidrogelova, jer im je veličina pora između 0,1 i 1 μm [26]. Takođe se može zaključiti da veličina pora opada sa porastom stepena umreženja. Najveće pore imaju uzorci sintetisani pri pH 4,6, a najmanje uzorci sintetisani pri pH 6,0 pri istom stepenu umreženja.

Tabela 8. Parametri mreže hidrogela dobijeni primenom teorije ravnotežnog bubrenja
 Table 8. Network parameters of the hydrogel obtained by equilibrium swelling theory

Uzorak	q_e	v_{2m}	χ	$M_c \times 10^{-5} / \text{g mol}^{-1}$	$v_e \times 10^6 / \text{mol cm}^{-3}$	$\xi / \mu\text{m}$
25ChNik-1	25,6	0,039	0,531	21,53	0,23	0,297
25ChNik-2	15,4	0,065	0,523	11,43	0,52	0,164
25ChNik-3	12,4	0,081	0,529	5,46	1,28	0,111
25ChNik-4	20,3	0,049	0,517	5,29	1,05	0,108
25ChNik-5	11,2	0,089	0,532	3,37	1,88	0,089
25ChNik-6	10,6	0,094	0,534	3,09	2,19	0,084
37ChNik-1	35,6	0,028	0,510	48,7	0,11	0,395
37ChNik-2	30,1	0,033	0,511	38,2	0,17	0,328
37ChNik-3	18,8	0,053	0,518	10,5	0,66	0,157
37ChNik-4	26,9	0,037	0,513	23,2	0,24	0,227
37ChNik-5	20,8	0,048	0,517	15,3	0,45	0,184
37ChNik-6	16,5	0,060	0,521	9,20	0,69	0,147

Efektivna gustina umreženja, v_e , raste sa porastom pH rastvora za sintezu i porastom koncentracije umreživača.

ZAKLJUČAK

Kopolimerni hidrogelovi *N*-izopropilakrilamid/ita-konska kiselina/hitozan su pokazali očekivani stepen bubrenja i kontrakcije, kao i visok ravnotežni sadržaj vode (0,90–0,97). Ovaj rezultat pokazuje da se ovi hidrogelovi mogu koristiti kao biomaterijali, jer je ravnotežni sadržaj vode veći nego procenat vode u ljudskim organima (60%). Utvrđeno je da je stepen bubrenja veći za uzorke sintetisane na temperaturi od 37 °C. Na stepen bubrenja i kontrakcije utiče i pH vrednost rastvora za sintezu hidrogelova, a najveći stepen bubrenja pokazuju hidrogelovi sintetisani pri pH 4,60. Zaključeno je da transport tečnosti kroz hidrogel ne prati Fick-ov zakon difuzije, kao i da se ovi hidrogelovi mogu svrstati u grupu makroporoznih hidrogelova. Potencijalna primena ovih hidrogelova bi mogla da bude za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci u farmaciji, poljoprivredi, zaštiti životne sredine i biomedicinskim primenama.

Zahvalnica

Autori se zahvaljuju Ministarstvu prosvete i nauke Republike Srbije za finansijsku podršku ovom radu u okviru projekta br. 172062.

LITERATURA

- [1] G.H. Chen, A.S. Hoffman, Graft copolymers that exhibit temperature-induced phase transitions over a wide range of pH, *Nature* **373** (1995) 49–52
- [2] X. Qu, A. Wirsén, A.C. Albertsson, Novel pH-sensitive chitosan hydrogels: swelling behavior and states of water, *Polymer* **41** (2000) 4589–4598
- [3] A. Suzuki, T. Tanaka, Phase transition in polymer gels induced by visible light, *Nature* **346** (1990) 345–347
- [4] M. Chipara, I. Morjan, R. Alexandrescu, Magnetic investigations of titanium-doped gamma iron oxides dispersed in polymers, *J. Polym. Sci., B* **43** (2005) 3432–3437
- [5] K. Sofia, A. Krozer, J. Lausmaa, B. Kasemo, Ultraviolet light treatment of thin high-density polyethylene films monitored with a quartz crystal microbalance, *J. Appl. Polym. Sci.* **92** (2004) 2833–2839
- [6] H. Li, J. Chen, K.Y. Lam, Multiphysical modeling and meshless simulation of electric-sensitive hydrogels, *J. Polym. Sci., B* **42** (2004) 1514–1531
- [7] D. Ameye, J. Voorspoels, P. Foreman, J. Tsai, P. Richardson, S. Geresh, J.P. Remon, Trypsin inhibition, calcium and zinc ion binding of starch-g-poly(acrylic acid) copolymers and starch/poly (acrylic acid) mixtures for peroral peptide drug delivery, *J. Controlled Release* **75** (2001) 357–364
- [8] M. Recillas, L.L. Silva, C. Peniche, F.M. Goycoolea, M. Rinaudo, W.M. Arguelles-Monal, Thermoresponsive Behavior of chitosan-g-n-isopropylacrylamide copolymer solutions, *Biomacromolecules* **10** (2009) 1633–1641
- [9] M. Rinaudo, Chitin and chitosan: Properties and applications, *Prog. Polym. Sci.* **31** (2006) 603–632
- [10] S.G. Gholap, M.V. Badiger, Synthesis and characterization of polyamphoteric hydrogel membrane based on chitosan, *J. Appl. Polym. Sci.* **93** (2004) 1454–1461
- [11] W.-F. Lee, W.-Y. Yuan, Thermoreversible hydrogels X: Synthesis and swelling behavior of the (*N*-isopropylacrylamide-co-sodium 2-acrylamido-2-methylpropyl sulfonate) copolymeric hydrogels, *J. Appl. Polym. Sci.* **77** (2000) 1760–1768
- [12] C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, Reversible adsorption by a pH- and temperature-sensitive acrylic hydrogel, *J. Control. Release* **80** (2002) 247–257
- [13] N. A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, H. Ichikawa, Hydrogels in pharmaceutical formulations, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **50** (2000) 27–46
- [14] Y. Qui, K. Park, Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **53** (2001) 321–339
- [15] S.J. Kim, C.K. Lee, S.I. Kim, Electrical/pH responsive properties of poly(2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid)/hyaluronic acid hydrogels, *J. Appl. Polym. Sci.* **92** (2004) 1731–1736
- [16] S.J. Lee, S.S. Kim, Y.M. Lee, Interpenetrating polymer network hydrogels based on poly(ethyleneglycol) macromer and chitosan, *Carbohydr. Polym.* **41** (2000) 197–205
- [17] E. Karadag, O.B. Uzum, D. Saraydin, O. Guven, Dynamic swelling behavior of γ -radiation induced polyelectrolyte poly(AAm-co-CA) hydrogels in urea solutions, *Int. J. Pharm.* **301** (2005) 102–111
- [18] S.N. Swami, Radiation Synthesis of Polymeric Hydrogels for Swelling-Controlled Drug Release Studies, Ph.D. Thesis, University of New South Wales, 2005
- [19] A.A. Castro Forero, Immobilization Of Myoglobin From Horse Skeletal Muscle (Mb) And Hemon (Hbl) From *Lucina Pectinata* In Hydrophilic Polymer Networks For H2S Biosensor Application, M.S. Thesis, University Of Puerto Rico Mayaguez Campus, 2005
- [20] E.D. Pena, I. Quijada-Garrido, P. Frutos, JM. Barrales-Rienda, Analysis of the swelling dynamics of crosslinked P(N-iPAAm-co-MAA) copolymers, the corresponding homopolymers and their interpenetrating networks. Kinetics of water penetration into the gel above the pKa of MAA comonomeric units, *Polym. Int.* **52** (2003) 956–965
- [21] M. Sen, A. Yakar, O. Guven, Determination of average molecular weight between crosslinks (Mc) from swelling behaviors, *Polymer* **40** (1999) 2969–2974
- [22] J.R. Quintana, N.E. Valderruten, I. Katime, Mechanical properties of poly(N-isopropyl-acrylamide-co-itaconic acid) hydrogels, *J. Appl. Polym. Sci.* **85** (2002) 2540–2545
- [23] B. Tasdelen, N. Kayaman-Apohan, O. Goven, B.M. Bay-sal, Preparation of poly(N- isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels and their drug release, *Int. J. Pharm.* **278** (2004) 343–351

- [24] J. Veličković, J. Filipović, D. Petrović-Đakov, The synthesis and characterization of poly(itaconic) acid, *Polym. Bull.* **32** (1994) 169–172
- [25] M. Ilić, Magistarski rad, Farmaceutski fakultet, Beograd, 2005
- [26] H. Omidian, J.G. Rocca, K. Park, *Advances in superporous hydrogels*, *J. Control. Release* **102** (2005) 3–12.

SUMMARY

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF COPOLYMER HYDROGELS OF CHITOSAN, ITACONIC ACID AND *N*-ISOPROPYLACRYLAMIDE

Nedeljko B. Milosavljević, Nikola Z. Milašinović, Jovanka M. Filipović, Melina T. Kalagasidis Krušić

University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia

(Scientific paper)

This paper deals with the synthesis of copolymer hydrogels of *N*-isopropylacrylamide, itaconic acid and chitosan. During synthesis, pH of the reaction solution and temperature were varied. It was found that the reaction at higher temperature, above lower critical solution temperature (LCST) value of *N*-isopropylacrylamide resulted in a formation of polymer rich domains or aggregates in the matrix of loosely tied network, which cause a higher degree of swelling. Moreover, reaction pH also affects the degree of swelling and contraction of hydrogels owing to the different ionization of the ionic groups present in the hydrogel. The values of the diffusion exponent, n , indicate non-Fickian kinetics corresponding to diffusion and relaxation of polymer chains. These hydrogels could be classified as macroporous hydrogels. Hence, it is possible to synthesize hydrogels of desired functionality which allow their application in different fields.

Keywords: *N*-Isopropylacrylamide • Itaconic acid • Chitosan • Hydrogel • Swelling behaviour